Disco reactivo metabólico completo de Piccolo®

Servicio y asistencia técnica al cliente: 800-822-2947
Para solicitar el servicio de asistencia al cliente, los clientes residentes fuera de EE.UU. deben ponerse en contacto con su representante local de Abaxis

Aplicable solamente a los clientes de EE.UU.
Exoneración de la CLIA: Usar únicamente sangre entera tratada con heparina-litio
Complejidad moderada: Usar sangre entera anticoagulada con heparina-litio, plasma tratado con heparina litio o suero

Febrero 2014
PN: 400-7139 Rev. M
© 2003, Abaxis, Inc., Unión City, CA 94587

1. Indicaciones

El disco reactivo metabólico completo Piccolo®, usado con el analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress™, está diseñado para su utilización en la determinación cuantitativa *in vitro* de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina, fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST), calcio, cloruro, creatinina, glucosa, potasio, sodio, bilirrubina total, dióxido de carbono total, proteína total y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) total en sangre entera heparinizada, plasma heparinizado o suero en un ámbito de laboratorio clínico o una ubicación point-of-care..

Solamente para clientes de EE.UU.

Los análisis de este panel están exonerados según los requisitos de CLIA '88. Si un laboratorio modificara las instrucciones del sistema de análisis, los análisis se considerarían de alta complejidad y quedarían sujetos a todos los requisitos de la CLIA. En los laboratorios exonerados según la CLIA, sólo puede analizarse sangre entera tratada con heparina-litio. En laboratorios de complejidad moderada, pueden utilizarse sangre entera tratada con heparina-litio, plasma tratado con heparina-litio o suero.

Se necesita un certificado de exoneración de la CLIA para realizar análisis exonerados por la CLIA. Un certificado de exoneración puede obtenerse de CMS (Centers for Medicare & Medicaid Services). Si necesita ayuda para obtener este certificado, diríjase a la comisión de acreditación de laboratorios (COLA), en el teléfono 1-800-981-9883.

2. Resumen y explicación de las pruebas

El disco reactivo metabólico completo Piccolo y el analizador químico de sangre de Piccolo constituyen un sistema diagnóstico in vitro que ayuda al médico en el diagnóstico de las siguientes enfermedades:

Alanina aminotransferasa (ALT):	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis viral y la cirrosis.
Albúmina:	Patologías del hígado y del riñón.
Fosfatasa alcalina (ALP):	Patologías del hígado, óseas, de la glándula paratiroides e intestinales.
Aspartato aminotransferasa (AST):	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia viral, shock.
Calcio:	Enfermedades de la glándula paratiroides, óseas y nefropatías crónicas; tétanos.
Cloruro:	Deshidratación, diarrea y vómitos prolongados, tubulopatía renal, hiperparatiroidismo, quemaduras, nefropatías perdedoras de sal, sobrehidratación y tratamiento con tiazidas.
Creatinina:	Nefropatía y control de diálisis renal.
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluida la diabetes mellitus del adulto y juvenil e hipoglucemia.
Potasio:	Glomerulopatía o tubulopatía renal, insuficiencia adrenocortical, cetoacidosis diabética, tratamiento endovenoso con potasio excesivo, sepsis, panhipopituitarismo, hemólisis *in vitro*, hiperaldosteronismo, malnutrición, hiperinsulinismo, alcalosis metabólica y pérdida gastrointestinal.

Sodio:	Deshidratación, diabetes insípida, pérdida de líquidos gastrointestinales hipotónicos, intoxicación por sal, disminución selectiva de la sensación de sed, pérdidas cutáneas, quemaduras, sudoración, hiperaldosteronismo, alteraciones del SNC, hiponatremia por dilución, por depleción y por delirio, y síndrome de secreción inadecuada de HAD.
Bilirrubina total:	Hepatopatías, incluida la hepatitis y obstrucción de la vesícula biliar; ictericia.
Dióxido de carbono total:	Alcalosis y acidosis metabólica primarias, y alcalosis y acidosis respiratoria primarias.
Proteína total:	Hepatopatías, enfermedades del riñón o de la médula ósea; alteraciones metabólicas y de la nutrición.
Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN):	Nefropatías y enfermedades metabólicas.

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, antes del diagnóstico final hay que considerar todos los restantes procedimientos de prueba, incluido el estado clínico del paciente.

3. Principio del procedimiento

Alanina aminotransferasa (ALT)
La alanina aminotransferasa (ALT) fue medida por tres métodos. Dos de estos métodos: la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina [1,2] y la prueba enzimática fluorescente, se usan muy raramente.[3] La técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero es un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue.[4] La Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) ha propuesto un procedimiento Wróblewski y LaDue modificado como el recomendado.[5]

El método desarrollado para usar con los analizadores de Piccolo es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α-cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD^+, como se muestra en el esquema siguiente de la reacción.

$$\text{L-Alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-Glutamato} + \text{Piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + NAD^+$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH a NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT presente en la muestra.

Albúmina (ALB)
Los primeros métodos usados para medir la albúmina incluyen técnicas de fraccionamiento[6,7,8] y el contenido en tritofano de las globulinas.[9,10] Estos métodos son difíciles de utilizar y no tienen una especificidad elevada. Hay dos técnicas inmunoquímicas que se consideran métodos de referencia, pero son costosas y requieren mucho tiempo.[11] Las técnicas de tinción son los métodos usados con mayor frecuencia para el análisis de la albúmina. El verde de bromcresol (BCG) es el método de tinción usado con mayor frecuencia, pero puede sobrestimar la concentración de albúmina, en especial dentro del extremo inferior de los valores normales.[12] La púrpura de bromcresol (BCP) es la más específica de las tinturas en uso.[13,14]

La púrpura de bromcresol (BCP), al unirse a la albúmina, cambia su color de amarillo a azul. La absorbancia máxima cambia con el cambio de color.

$$\text{BCP} + \text{Albúmina} \xrightarrow[\text{pH ácido}]{\text{Surfactantes}} \text{Complejo BCP-Albúmina}$$

La albúmina unida es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. Se trata de una reacción de punto final que se mide como la diferencia en la absorbancia entre 600 nm y 550 nm.

Fosfatasa alcalina (ALP)
Las técnicas para medir la fosfatasa alcalina fueron creadas hace más de 60 años. En estos momentos, a algunos de estos métodos espectrofotométricos de criterio de valoración o de dos puntos.[15,16] se los considera obsoletos o demasiado complicados. El uso de *p*-nitrofenil fosfato (*p*-NPP) aumentó la velocidad de la reacción.[17, 18] La fiabilidad de esta técnica aumentó de manera considerable con el uso de un amortiguador de ión metálico para mantener la concentración de iones de magnesio y zinc en la reacción.[19] El método de referencia de la Asociación Norteamericana de Química Clínica (AACC)[20] usa el *p-NPP* como sustrato y un amortiguador con ión metálico.

El procedimiento de Piccolo se modificó a partir de los métodos AAC y IFCC.[21] La fosfatasa alcalina hidroliza el *p*-NPP en un amortiguador con ión metálico y forma *p*-nitrofenol y fosfato.

$$p\text{-nitrofenil fosfato} \xrightarrow[Zn^{2+},Mg^{2+}]{ALP} p\text{-Nitrofenol} + \text{fosfato}$$

La cantidad de ALP en la muestra es proporcional al índice de aumento de la diferencia de absorbancia entre 405 nm y 500 nm.

Aspartato aminotransferasa (AST)
La prueba de aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método de cinético de Karmen[22], de acuerdo con la modificación de Bergmeyer.[23] El método de referencia actual de la Federación de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamiento de malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero.[23,24] Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por el piruvato endógeno.

El AST cataliza la reacción del L-aspartato y α-cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato es convertido en malato y el NADH es oxidado a NAD^+ por el catalizador MDH.

$$\text{L-aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{AST} \text{Oxaloacetato} + \text{L-glutamato}$$

$$\text{Oxaloacetato} + NADH + H^+ \xrightarrow{MDH} \text{Malato} + NAD^+$$

El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de AST en la muestra.

Calcio (CA)
Los primeros métodos usados para analizar el calcio comprendieron la precipitación del calcio con un exceso de aniones.[25,26,27] Los métodos de precipitación son trabajosos y a menudo imprecisos. El método de referencia para el calcio es la espectroscopía por absorción atómica; sin embargo, este método no es adecuado para uso rutinario.[28] Los métodos espectrofotométricos mediante *o*-cresolftaleína complexona o arsenazo III como indicadores metalocrómicos son los que se utilizan con mayor frecuencia.[29,30,31] El arsenazo III tiene una gran afinidad por el calcio y no depende de la temperatura como el CPC.

El calcio en la muestra del paciente se une al arsenazo III para formar un complejo de tintura de calcio.

$$Ca^{2+} + \text{Arsenazo III} \longrightarrow \text{Complejo } Ca^{2+}\text{-Arsenazo III}$$

El criterio de valoración de la reacción final se controla a 405 nm, 467 nm y 600 nm. La cantidad de calcio en la muestra es proporcional a la absorbancia.

Cloruro (CL^-)
El método se basa en la determinación de la activación de la α-amilasa dependiente del cloruro. La α-amilasa desactivada se reactiva al añadir el ión cloruro, permitiendo que el calcio se vuelva a asociar con la enzima. La reactivación de la α-amilasa es proporcional a la concentración de iones de cloruro en la muestra. La α-amilasa reactivada convierte el substrato, 2-cloro-*p*-nitrofenil-α-D-maltotriosido (CNPG3) en 2-cloro-*p*-nitrofenol (CNP) que produce color y una α-maltotriosa (G3). La reacción se mide biocromáticamente y el aumento en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la α-amilasa reactivada y la concentración de ión cloruro en la muestra.[32]

$$\text{CNPG3} \xrightarrow[Cl^-,\ Ca^{2+}]{\alpha\text{-Amilasa}} \text{CNP} + \text{G3}$$

Creatinina (CRE)
El método Jaffe, presentado en 1886, sigue siendo el método usado con mayor frecuencia para la determinación de los niveles de creatinina en la sangre. El método de referencia actual combina el uso de tierra de Fuller (floridina) con la técnica de Jaffe para aumentar la especificidad de la reacción.[33,34] Se desarrollaron métodos enzimáticos que son más específicos para la creatinina que las distintas modificaciones de la técnica de Jaffe.[35,36,37] Los métodos mediante la enzima creatinina amidohidrolasa eliminan el problema de la interferencia de ión amoníaco encontrada en técnicas que utilizan creatinina iminohidrolasa.[38]

$$\text{Creatinina} + H_2O \xrightarrow{\text{Creatinina amidohidrolasa}} \text{Creatina}$$

$$\text{Creatina} + H_2O \xrightarrow{\text{Creatina amidinohidrolasa}} \text{Sarcosina} + \text{urea}$$

$$\text{Sarcosina} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Sarcosina oxidasa}} \text{Glicina} + \text{formaldehído} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{TBHBA} + \text{4-AAP} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{Coloración roja de quinoneimina} + H_2O$$

Se utilizan dos cubetas para determinar la concentración de creatinina en la muestra. La creatina endógena se mide en la cubeta de referencia, que es restada de la creatina endógena combinada y la creatina formada a partir de las reacciones enzimáticas en la cubeta de prueba. Una vez eliminada la creatina endógena de los cálculos, la concentración de creatinina es proporcional a la intensidad del color rojo producido. El criterio de valoración del fin de la reacción se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 600 nm.

eGFR (calculada)
La creatinina sérica se mide de forma rutinaria como indicador de la función renal. Debido a que la edad, el sexo y la raza influyen en las concentraciones de creatinina, no es posible detectar la nefropatía crónica (NC) tan solo mediante la creatinina sérica. Así pues, el National Kidney Disease Education Program (Programa Nacional de Educación sobre la Nefropatía) recomienda encarecidamente que los laboratorios informen de forma rutinaria de la tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) cuando se mida la creatinina sérica en los pacientes mayores de 18 años. La comunicación de forma rutinaria de la eGFR junto con todas las determinaciones de creatinina sérica permite a los laboratorios ayudar a identificar a los individuos con función renal reducida y contribuye a facilitar la detección de la NC. Los valores calculados de la eGFR <60 mL/min generalmente están asociados con un mayor riesgo de resultados adversos de la NC.

Piccolo calcula la eGFR usando la edad, el sexo y la raza del paciente. El método de Piccolo para la creatinina es comparable con el método de referencia para la creatinina IDMS, de forma que se puede utilizar la siguiente forma de la ecuación MDRD para el cálculo de la eGFR.

$$\text{GFR (mL/min/1,73 m}^2) = 175 \times (S_{cr})^{-1.154} \times (\text{edad})^{-0.203} \times (0{,}742 \text{ si es mujer}) \times (1{,}212 \text{ si es afroamericano})$$

Glucosa (GLU)
Las mediciones de la concentración de glucosa se realizaron en un principio utilizando métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu[39] y Somolgyi-Nelson [40,41]). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos mediante las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de la glucosa incorporada en el disco reactivo metabólico completo es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que se propuso como la base para el método de referencia de la glucosa.[42]

La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por la hexoquinasa (HK), produce glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) a NADH.

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{HK}} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-Fosfogluconato} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

Potasio (K^+)
Se han desarrollado métodos espectrofotométricos que permiten la medición de la concentración del potasio con instrumentación estándar de química clínica. El método enzimático Abaxis se basa en la activación de la piruvato quinasa con potasio, y muestra una linealidad excelente y una susceptibilidad despreciable a las sustancias endógenas.[43,44,45] La interferencia del sodio y del ión amoníaco se minimiza al agregar Kriptofix y glutamato deshidrogenasa, respectivamente.[43]

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la piruvato quinasa (PK) desfosforila al fosfoenolpiruvato (PEP) para formar piruvato. La lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD^+.

$$\text{ADP} + \text{PEP} \xrightarrow{K^+,\ \text{PK}} \text{Piruvato} + \text{ATP}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + \text{NAD}^+$$

El rango de cambio en la diferencia de absorbancia entre 340 y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de potasio en la muestra.

Sodio (NA^+)
Se han desarrollado métodos colorimétricos y enzimáticos que permiten la medición de la concentración del sodio con instrumentación estándar de química clínica.[46,47,48] En la reacción enzimática Abaxis, la β-galactosidasa es activada por el sodio en la muestra. La enzima activada cataliza la reacción de o-nitrofenilo-β-D-galactopiranosida (ONPG) a o-nitrofenol y galactosa.

$$\text{ONPG} \xrightarrow[\beta\text{-Galactosidasa}]{Na^+} \text{o-nitrofenol} + \text{Galactosa}$$

Bilirrubina total (TBIL)
Típicamente, los niveles de bilirrubina total se han evaluado por pruebas que emplean ácido sulfanílico diazotizado.[49,50] Se ha desarrollado un método más moderno y más específico, que utiliza la enzima bilirrubina oxidasa.[51,52,53] Además de utilizar el método de prueba de la bilirrubina total más específico, la fotodegradación del electrolito se minimiza con los analizadores Piccolo, porque la muestra se puede analizar inmediatamente después de obtenida.

En el procedimiento enzimático, la bilirrubina se oxida por la bilirrubina oxidasa en biliverdina.

$$\text{Bilirrubina} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Bilirrubina oxidasa}} \text{Biliverdina} + \text{H}_2\text{O}$$

La bilirrubina se mide como la diferencia en la absorbancia entre 467 nm y 550 nm. La absorbancia inicial de esta reacción de punto final se determina por la cubeta de referencia con bilirrubina y la absorbancia final se obtiene de la cubeta de prueba con bilirrubina. La cantidad de bilirrubina en la muestra es proporcional a la diferencia entre las mediciones inicial y final de la absorbancia.

Dióxido de carbono total (tCO2)
El dióxido de carbono total en suero o en plasma existe como dióxido de carbono disuelto, derivados carbaminos de las proteínas, iones de bicarbonato y carbonato, y ácido carbónico. El dióxido de carbono total se puede medir mediante el indicador de pH, método de electrodo CO_2 y métodos enzimáticos espectrofotométricos, que producen todos resultados precisos y exactos.[54,55] El método enzimático está bien adaptado para usar en un analizador químico sanguíneo de rutina sin agregar complejidad.

En el método enzimático, la muestra primero se hace alcalina para convertir todas las formas de dióxido de carbono (CO_2) a bicarbonato (HCO_3^-). El fosfoenolpiruvato (PEP) y el HCO_3^- reaccionan para formar oxaloacetato y fosfato en presencia de fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC). La malato deshidrogenasa (MDH) cataliza la reacción de oxaloacetato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH) a NAD^+ y malato. La velocidad del cambio en la absorbancia debido a la conversión de NADH en NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de tCO_2 en la muestra.

$$PEP + HCO_3^- \xrightarrow{PEPC} Oxaloacetato + Fosfato$$

$$Oxaloacetato + NADH + H^+ \xrightarrow{MDH} NAD^+ + Malato$$

Proteína total (TP)
El método de la proteína total es una modificación de la reacción de Biuret, mencionado por su precisión, exactitud y especificidad.[56] Originariamente fue desarrollado por Riegler y modificado por Weichselbaum, Doumas y otros. La reacción de Biuret es un posible método de referencia para la proteína total.[57,58,59]

En la reacción de Biuret, la solución de proteínas es tratada con iones cúpricos [Cu(II)] en un medio fuertemente alcalino. Se agregan tartrato sódico de potasio y ioduro de potasio para impedir la precipitación del hidróxido de cobre y la auto-reducción del cobre, respectivamente.[58] Los iones Cu(II) reaccionan con uniones peptídicas entre el oxígeno del carbonilo y el nitrógeno de la amida para formar un complejo Cu-Proteína coloreado.

$$Proteína\ total + Cu(II) \xrightarrow{OH^-} Complejo\ Cu\text{-}Proteína$$

La cantidad de proteínas totales en la muestra es directamente proporcional a la absorbancia del complejo Cu-proteína. La prueba de proteína total es una reacción de valoración final y la absorbancia se mide como la diferencia en la absorbancia entre 550 nm y 850 nm.

Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)
La urea puede ser medida directa e indirectamente. La reacción de diacetil monoxima, el único método directo para medir la urea, es la usada más comúnmente, pero emplea reactivos peligrosos.[60] Los métodos indirectos miden el amoníaco creado a partir de la urea; el uso de la enzima ureasa aumentó la especificidad de estas pruebas.[61] El amoníaco se cuantifica mediante distintos métodos, entre ellos la nesslerización (valoración ácida), la técnica de Berthelot [62,63] y las reacciones enzimáticas acopladas.[64,65] Sin embargo, los procedimientos de Berthelot catalizados son erráticos cuando se mide el amoníaco.[66] Las reacciones enzimáticas acopladas son rápidas, tienen una elevada especificidad para el amoníaco y son las usadas con mayor frecuencia. Una de estas reacciones fue propuesta como posible método de referencia.[67]

En la reacción de acoplamiento de enzimas, la ureasa hidroliza la urea en amoníaco y dióxido de carbono. Al combinarse el amoníaco con α-cetoglutarato y nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) oxida la NADH en NAD^+.

$$Urea + H_2O \xrightarrow{Ureasa} 2NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + \alpha\text{-cetoglutarato} + NADH \xrightarrow{GLDH} L\text{-Glutamato} + H_2O + NAD^+$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de urea presente en la muestra.

4. Principios de la operación

Consulte el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress para obtener información sobre los principios y las limitaciones del procedimiento.

5. Descripción de los reactivos

Reactivos
Cada disco reactivo metabólico básico de Piccolo contiene soportes reactivos específicos para pruebas secas (descritas a continuación). En cada disco se incluye un reactivo seco en blanco de muestra (con amortiguador, surfactantes, excipientes y

estabilizadores) para utilizar en el cálculo de las concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), albúmina (ALB), fosfatasa alcalina (ALP), aspartato aminotransferasa (AST), calcio (CA), cloruro (CL^-), glucosa (GLU), potasio (K^+), sodio (NA^+), dióxido de carbono total (tCO_2), proteína total (TP) y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN). En el disco se incluyen muestras de referencias dedicadas para creatinina (CRE) y bilirrubina total (TBIL). Cada disco contiene un diluyente que consta de surfactantes y estabilizantes.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad/disco
Ácido 2,4,6-Tribromo-3-hidroxibenzoico (TBHBA)	188µg
2-Cloro-4-nitrofenil-a-maltotriosida (CNPG3)	53µg
2-Metil-4-isotizolina-3-uno clorhidrato (MIT)	4,2µg
4,7,13,16,21-Pentaoxa-1,10-diazabiciclo[8.8.5]tricosano (Kryptofix 221)	86µg
4-Aminoantipirina clorhidrato	13µg
Adenosina 5'-difosfato	36µg
Adenosina 5'-trifosfato	22µg
Ácido α-cetoglutárico	101µg
Amilasa	0,036U
Arsenazo III, sal sódica	1,7µg
Ascorbato oxidasa (*Cucurbita spp.*)	0,3U
Bilirrubina oxidasa	0,1U
Púrpura de bromcresol	2,2µg
Acetato de calcio	25µg
Ácido cítrico, sal trisódica	567µg
Creatina amidinohidrolasa (*Actinobacillus spp.*)	3U
Creatinina amidohidrolasa (Pseudomonas spp.)	1U
Sulfato cúprico	134µg
Etilenglicol-bis(ß-aminoetil éter)-N,N,N',N'-ácido tetraacético (EGTA)	4µg
Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)	178µg
Ácido etilendiaminatetraacético (EDTA), sal disódica	15µg
ß-Galactosidasa	0,005U
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (levadura)	0,05U
Glutamato deshidrogenasa (hígado bovino)	0,01U
Glutamina sintetasa	0,17U
Hexoquinasa (levadura)	0,1U
Imidazol	29µg
Lactato deshidrogenasa	0,27U
L-alanina	874µg
L-ácido aspártico	426µg
Ácido L-glutámico	9,2µg
Cloruro de magnesio	3µg
Sulfato de magnesio	33µg
Malato deshidrogenasa (corazón porcino)	0,1U
Cloruro de manganeso	10µg
N-Acetil cisteína	60µg
ß-Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD)	40µg
ß-Nicotinamida adenina dinucleótido, reducida (NADH)	48µg
o-Nitrofenil-ß-D-galactopiranosida (ONPG)	22µg
Peroxidasa (rábano)	1U
Fosfoenolpiruvato	57µg
Fosfoenolpiruvato carboxilasa	0,001U
p-NPP	56µg
Ferrocianuro de potasio	0,4µg
Yoduro de potasio	28µg
Piruvato quinasa	0,01U

Tabla 1: Reactivos (continuación)

Componente	Cantidad/disco
Sarcosina oxidasa (microorganismos)	1U
Potasio sódico tartrato	343µg
Ureasa (haba blanca)	0,05U
Sulfato de zinc	3µg
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y estabilizantes	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*

- El envase del diluyente en el disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. No puede reutilizarse un disco con un envase de diluyente abierto. Compruebe que la muestra o la prueba fue colocada en el disco antes de cerrar el cajón.

- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga buenas prácticas de seguridad de laboratorio cuando manipule y elimine discos usados.[68] En el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress puede consultar las instrucciones de limpieza de derrames biopeligrosos.

- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallarse si se caen. **Nunca** use un disco que se haya caído ya que puede diseminar material biológico peligroso en el interior del analizador.

- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso en que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras dejar caer y romper un disco de reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los discos de reactivo pueden ser usados directamente del refrigerador sin calentar. No permita que los discos sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes del uso. Abra la bolsa de aluminio sellada, retire el disco y úselo de acuerdo con las instrucciones del Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress. Debe desechar los discos no usados en los 20 minutos siguientes a la apertura de la bolsa.

Almacenamiento

Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2-8 °C (36-46 °F). No exponga los discos abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32 °C (90 °F). Los discos de reactivo pueden ser usados hasta la fecha de caducidad indicada en el paquete. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo

Una bolsa rasgada o rota puede permitir que la humedad llegue al disco sin usar y afecte de manera negativa la eficacia del reactivo. No use un disco de una bolsa dañada.

6. Instrumento

Consulte el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress para obtener información completa acerca del uso del analizador.

7. Recolección y preparación de las muestras

En la sección “Obtención de muestras” del manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o material de referencia. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben ser homogeneizadas antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta el tubo de recolección con suavidad varias veces antes de transferir la muestra. No sacuda el tubo de recolección; esto puede causar hemólisis.

- La hemólisis puede provocar resultados erróneamente elevados en las pruebas de potasio. Este problema puede pasar desapercibido cuando se analiza sangre entera (la liberación de potasio de apenas 0,5 % de los eritrocitos puede aumentar el nivel sérico de potasio en 0,5 mmol/l). Además, incluso las muestras no hemolizadas que no se procesan con rapidez pueden tener niveles de potasio elevados por la pérdida intracelular de potasio.[69]

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción se deben analizar dentro de los 60 minutos posteriores a la extracción.[70] Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el tiempo transcurrido desde que el paciente ingirió alimentos y el tipo de muestra obtenida de él. Para determinar los resultados de glucosa con precisión, deben obtenerse muestras de un paciente que haya ayunado por lo menos, durante 12 horas. Las concentraciones de glucosa disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente.[71]

- La refrigeración de muestras de sangre entera puede provocar cambios significativos en las concentraciones de **aspartato aminotransferasa**, **creatinina** y **glucosa**.[72] La muestra puede separarse en plasma y suero, y almacenarse en tubos de ensayo con tapa a 2-8 °C (36-46 °F) si la muestra no se analiza dentro de los 60 minutos.

- Los resultados de la **bilirrubina total** pueden verse afectados de manera negativa por la fotodegradación.[73] Las muestras de sangre entera que no se analicen de inmediato se deben almacenar en la oscuridad por períodos que no excedan los 60 minutos. Si la muestra no se puede analizar dentro de dicho período, se la puede separar en plasma o suero, y almacenar en un tubo de muestra con tapa en la oscuridad a baja temperatura.[74]

- Para las muestras de sangre o plasma use sólo tubos de recolección de muestras tratados con heparina litio (tapón verde). Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).

- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al disco reactivo.

- La concentración de dióxido de carbono total es determinada con mayor precisión cuando la prueba se lleva a cabo inmediatamente después de abrir el tubo y lo más pronto posible después de la obtención y procesado de la sangre en el tubo cerrado. El aire contiene mucho menos dióxido de carbono que el plasma, y el dióxido de carbono gaseoso disuelto escapará de la muestra al aire, con la reducción resultante en el valor del dióxido de carbono de hasta 6 mmol/l en el curso de 1 hora.[75]

8. Procedimiento

Materiales suministrados

- Un disco reactivo metabólico completo Piccolo PN: 400-1028 (una caja de discos, PN: 400-0028)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Analizador químico sanguíneo Piccolo o analizador químico Piccolo xpress
- Con cada analizador químico sanguíneo Piccolo o analizador químico Piccolo xpress se suministran pipetas de transferencia de muestras (con volumen fijo de aproximadamente 100 µl) y puntas, y pueden solicitarse repuestos a Abaxis.
- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica Abaxis para solicitar materiales de control homologados y valores de referencia).
- Cronómetro

Parámetros de prueba

El analizador químico sanguíneo Piccolo y el analizador químico Piccolo xpress funcionan a una temperatura ambiente entre 15 °C y 32 °C (59-90 °F). El tiempo necesario para el análisis de cada disco reactivo metabólico completo de Piccolo es inferior a 14 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a una temperatura de 37 °C (98,6 °F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba
La extracción completa de la muestra y los procedimientos paso a paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.

Calibrado
El analizador químico sanguíneo Piccolo y el analizador químico Piccolo xpress han sido calibrados por el fabricante antes de su envío al cliente. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos para el disco. Ver el manual del usuario del analizador químico de sangre de Piccolo.

Control de calidad
Consulte la Sección 2.4 del manual del usuario de Piccolo o la Sección 6 (Calibración y control de calidad) del manual del usuario de Piccolo xpress. El rendimiento del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress puede verificarse por medio de controles. Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para solicitar una lista de los materiales de control de calidad homologados con los límites de aceptación. Otros controles basados en plasma o suero humanos pueden no ser compatibles. Los materiales de control de calidad deben almacenarse conforme a las instrucciones del prospecto incluido con los controles.

Si los controles dan resultados fuera de los límites, repita una vez. Si siguen fuera de los límites, llame al servicio de asistencia técnica. Si los controles incumplen los límites de la etiqueta, no utilice sus resultados. Consulte el Manual del usuario de Piccolo o Piccolo xpress para obtener información más detallada sobre la realización, el registro, la interpretación y la extrapolación de los resultados de control.

Laboratorios exonerados: Abaxis recomienda las pruebas de control de la siguiente manera:

- Al menos cada 30 días.
- Siempre que hayan cambiado las condiciones de laboratorio de manera significativa, por ejemplo, traslado del Piccolo a otro lugar o cambios en el control de temperatura.
- Cuando se indique la formación o nueva formación del personal.
- Con cada lote nuevo (análisis exonerados por CLIA en laboratorios en estado exonerado).

Laboratorios no exonerados: Abaxis recomienda que las pruebas de control se hagan conforme a las recomendaciones federales, estatales y locales.

9. Resultados

El analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress calculan e imprimen automáticamente las concentraciones de analitos en la muestra. Los detalles de los cálculos del criterio de valoración y velocidad de la reacción se encuentran en el Manual del usuario del analizador químico en cuestión.

En el manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados. Éstos se imprimen en tarjetas de resultado proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del operador del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

- El único anticoagulante **recomendado para uso** con el sistema químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress es **heparina-litio**. Abaxis ha realizado estudios demostrando que el EDTA, fluoruro, oxalato y cualquier anticoagulante que contenga iones de amoníaco interferirá con al menos un producto químico del disco reactivo metabólico completo Piccolo. No utilizar heparina sódica.

- Las muestras con un hematocrito superior al 62-65 % del volumen de eritrocitos concentrados (una fracción de volumen de 0,62-0,65) puede dar resultados imprecisos. Las muestras con un hematocrito elevado pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden ser centrifugadas para obtener plasma y luego realizar la prueba con un nuevo disco reactivo.

- **Cualquier resultado para una prueba particular que supere los valores de la prueba deberá ser analizado por otro método de prueba aprobado o enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra ni vuelva a analizarla en el analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.**

  Advertencia: Extensas pruebas realizadas con el sistema químico de sangre de Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress demostraron que, en muy raros casos, una muestra colocada en el disco reactivo puede no fluir de manera adecuada en la cámara de muestras. Debido al flujo asimétrico, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y los resultados obtenidos pueden quedar fuera de los valores de referencia. La muestra puede ser analizada de nuevo con un nuevo disco reactivo.

Interferencia
Se probaron sustancias que interfieren con los sustratos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada interferente potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-P.[76]

Efectos de las sustancias endógenas
- Los factores de interferencia fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos analitos. Los índices de la muestra se imprimen en la base de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de factores de interferencia presentes en cada muestra.

- El sistema químico sanguíneo Piccolo y el analizador químico Piccolo xpress suprimen cualquier resultado que sea afectado por más del 10 % de interferencia por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la tarjeta tendrá impreso “HEM”, “LIP” o “ICT” respectivamente.

- Los niveles de amilasa muy elevados (>9.000 U/l) tendrán un efecto significativo, superior al 10 % de aumento, sobre el resultado del cloruro. El sistema Piccolo no evalúa la concentración de amilasa de cada muestra.

- La prueba de potasio del sistema Piccolo es un ensayo de piruvato quinasa (PK) / lactatodeshidrogenasa (LDH) acoplados. Por tanto, en casos de trauma muscular extremo o niveles muy elevados de creatina quinasa (CK), el Piccolo puede recuperar un valor de potasio (K^+) falsamente elevado. En casos como éste, los valores de recuperación de potasio inesperadamente altos deben confirmarse con otra metodología.

- Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para obtener información acerca de los niveles máximos de sustancias endógenas.

Efectos de las sustancias exógenas y terapéuticas

- Se seleccionaron treinta y cinco sustancias exógenas y terapéuticas como interferentes potenciales para métodos de prueba Abaxis, siguiendo las recomendaciones de Young.[77] Se definió a una interferencia significativa como una desviación superior al ± 10 % en el resultado para una muestra de límite normal. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con una concentración conocida de los fármacos o químicos, y analizadas. En la Tabla 2 puede consultar una lista de las sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas. **En la Tabla 3 puede consultar una lista de los analitos en los que se observaron interferencias.**

Tabla 2: Sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas

Factores de interferencia potenciales	Concentración máxima analizada (mg/dl salvo donde se indiquen otras unidades)
Paracetamol	100
Acetoacetato	102
Ácido acetilsalicílico	50
Ampicilina	30
Ácido ascórbico	3
Cafeína	10
Cefalotina (Keflin)	400
Cloranfenicol	100
Cimetidina	16
Dopamina	13
Epinefrina	1
Eritromicina	10

Tabla 2: Sustancias exógenas y terapéuticas evaluadas (continuación)

Factores de interferencia potenciales	Concentración máxima analizada (mg/dl salvo donde se indiquen otras unidades)
Glutationa	30
Hidroclorotiazida	7,5
Ibuprofeno	50
Isoniacida	4
Cetoprofen	50
L-dopa	5
Lidocaína	1
Lactato de litio	84
Meticilina	100
Metotrexato	0,5
Metronidazol	5
Nafcilina	1
Nitrofurantoína	20
Oxacilina	1
Oxaloacetato	132
Penicilina G	100
Fenitoína (5,5-Difenilhidantoína)	3
Prolina	4
Rifampina	0,5
Ácido salicílico	50
Sulfadiazina	150
Sulfanilamida	50
Teofilina	20

En la Tabla 3 puede consultar una lista de los analitos en los que se observaron interferencias.

Tabla 3: Las sustancias siguientes mostraron un desvío superior al ± 10 % en el resultado para una muestra en límites normales.

	Concentración a la que se produce > 10 % de interferencia	% de interferencia[a] observada
Alanina aminotransferasa		
Ácido ascórbico	20	11 % aum.
Oxaloacetato		
Albúmina		
Acetoacetato	102	18 % dism.
Ampicilina	30	12 % dism.
Cafeína	10	14 % dism.
Cloruro de calcio	20	17 % dism.
Cefalotina (Keflin)	400	13 % aum.
Ibuprofeno	50	28 % aum.
α-cetoglutarato	5	11 % dism.
Nitrofurantoína	20	13 % dism.
Prolina	4	12 % aum.
Sulfadiazina	10	14 % dism.
Sulfanilamida	50	12 % dism.
Teofilina	20	11 % dism.
Fosfatasa alcalina		
Teofilina	20	42 % dism.

Tabla 3: Las sustancias siguientes mostraron un desvío superior al ±10 % en el resultado para una muestra en límites normales. (continuación)

	Concentración a la que se produce > 10 % de interferencia	% de interferencia[a] observada
Creatinina		
Ácido ascórbico	20	11 % dism.
Dopamina	19	80 % dism.
L-dopa	5	71 % dism.
Epinefrina	1	45 % dism.
Glutationa	30	13 % dism.
Glucosa		
Oxaloacetato	132	11 % dism.
Piruvato	44	13 % dism.
Potasio		
Penicilina G	100	17 % aum.
Sulfadiazina	150	12 % dism.
Sodio		
Cefalotina	400	12 % aum.
Metotrexato	0,5	11 % aum.
Penicilina G	100	10 % aum.
Bilirrubina total		
Dopamina	19	55 % dism.
L-dopa	5	17 % dism.
Dióxido de carbono total		
Paracetamol	100	11 % aum.
Ácido ascórbico	20	12 % dism.
Cefalotina	400	13 % aum.
Cimetidina	16	19 % dism.
Eritromicina	10	21 % dism.
Lidocaína	1	23 % aum.
Metotrexato	0,5	80 % dism.
Nitrofurantoína	20	13 % aum.
Ácido salicílico	50	17 % dism.
Sulfadiazina	150	25 % dism.

[A] Dism. = disminución en la concentración del sustrato especificado; Aum. = aumento en la concentración del sustrato especificado.

- Para la prueba de cloruro, el bromuro a niveles tóxicos (≥ 15 mmol/l) puede causar un efecto significativo (> 10 % de aumento) sobre el resultado del cloruro. El yoduro a concentraciones muy altas (30 mmol/l, el nivel más elevado que se ha probado) no tiene efecto. Los niveles fisiológicos normales de bromuro y yoduro no interfieren en el Sistema de prueba del cloruro de Piccolo.

11. Valores esperados

Se analizaron muestras de entre 60 y 140 varones y mujeres adultos en el analizador químico de sangre de Piccolo para determinar el intervalo de referencia para los electrolitos. Estos límites se calcularon sobre la base del 95 % del intervalo de referencia de los valores combinados (totales) obtenidos de los sujetos de referencia.[78] Estos intervalos se proporcionan solamente como guía. Los niveles de ALP en niños en crecimiento son muy variables.[79] Se recomienda que su consultorio o institución establezca los márgenes normales para su población de pacientes en particular.

Tabla 4: Intervalos de referencia Piccolo

Sustrato	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Albúmina (ALB)	3,3-5,5 g/dl	33-55 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Varón	53-128 U/l	53-128 U/l
Fosfatasa alcalina (ALP), Mujer	42-141 U/l	42-141 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Calcio (CA)	8,0-10,3 mg/dl	2,0-2,58 mmol/l
Cloruro (CL^-)	98-108 mmol/l	98-108 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,6-1,2 mg/dl	53-106 µmol/l
Glucosa (GLU)	73-118 mg/dl	4,05-6,55 mmol/l
Potasio (K^+)	3,6-5,1 mmol/l	3,6-5,1 mmol/l
Sodio (NA^+)	128-145 mmol/l	128-145 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,2-1,6 mg/dl	3,4-27,4 µmol/l
Dióxido de carbono total (tCO_2)	18-33 mmol/l	18-33 mmol/l
Proteína total (TP)	6,4-8,1 g/dl	64-81 g/l
Nitrógeno ureico (BUN)	7-22 mg/dl	2,5-7,9 mmol urea/l

12. Características de eficacia

Linealidad
La química para cada analito es lineal en el intervalo dinámico indicado a continuación cuando el analizador químico sanguíneo Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress funcionan de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el manual del usuario del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress).

Tabla 5: Límites dinámicos de Piccolo

Sustrato	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Albúmina (ALB)	1-6,5 g/dl	10-65 g/l
Fosfatasa alcalina (ALP)	5-2400 U/l	5-2400 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	5-2000 U/l	5-2000 U/l
Calcio (CA)	4,0-16,0 mg/dl	1,0-4,0 mmol/l
Cloruro (CL^-)	80-135 mmol/l	80-135 mmol/l
Creatinina (CRE)	0,2-20 mg/dl	18-1768 µmol/l
Glucosa (GLU)	10-700 mg/dl	0,56-38,9 mmol/l
Potasio (K^+)	1,5-8,5 mmol/l	1,5-8,5 mmol/l
Sodio (NA^+)	110-170 mmol/l	110-170 mmol/l
Bilirrubina total (TBIL)	0,1-30 mg/dl	1,7-513 µmol/l
Dióxido de carbono total (tCO_2)	5-40 mmol/l	5-40 mmol/l
Proteína total (TP)	2-14 g/dl	20-140 g/l
Nitrógeno ureico (BUN)	2-180 mg/dl	0,7-64,3 mmol/urea/l

Si la concentración del analito es superior al intervalo de medición (intervalo dinámico), pero inferior al del sistema, en la tarjeta impresa se indicarán un signo ">" en el límite superior y un asterisco detrás del número, por ejemplo, ALT >2000* U/l. Si es inferior al intervalo dinámico, se imprimirá "<" con un asterisco, por ejemplo, ALT <5* U/l. Para valores que tengan un valor enormemente más alto que el intervalo de medición (intervalo del sistema), se imprimirá "~~~" en lugar del resultado. Cada vez que aparezca "~~~" en la tarjeta impresa, recoja una muestra nueva y realice de nuevo la prueba. Si los resultados de la segunda muestra se vuelven a suprimir, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Abaxis.

Sensibilidad (límites de detección)
El límite inferior del rango informado (dinámico) para cada electrolito es: alanina aminotransferasa 5 U/l; albúmina 1 g/dl (10 g/l); fosfatasa alcalina 5 U/l; aspartato aminotransferasa 5 U/l; calcio 4,0 mg/dl (1,0 mmol/l); cloruro 80 mmol/l; creatinina 0,2 mg/dl (18 µmol/l); glucosa 10 mg/dl (0,56 mmol/l) potasio 1,5 mmol/l; sodio 110 mmol/l; bilirrubina total 0,1 mg/dl (1,7 µmol/l); dióxido de carbono total 5 mmol/l; proteína total 2 g/dl (20 g/l) y nitrógeno ureico sanguíneo 2,0 mg/dl (0,7 mmol urea/l).

Precisión
Los estudios de precisión se realizaron mediante el uso de las recomendaciones NCCLS EP5-A[80] con modificaciones basadas en NCCLS EP18-P[81] para dispositivos que se vayan a usar en la unidad. Los resultados para la precisión intraserial y total se determinaron mediante dos niveles de materiales de referencia disponibles comercialmente. Los estudios utilizaron múltiples instrumentos y dos lotes de discos reactivos. Las pruebas de calcio, creatinina, glucosa, sodio y nitrógeno ureico fueron realizadas en un sitio; las de potasio y dióxido de carbono total se realizaron en dos sitios a lo largo de 20 días; la prueba de cloruro se realizó en dos sitios a lo largo de cinco días.

Los resultados de los estudios de precisión se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Precisión

Sustrato	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Alanina aminotransferasa (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		21	21
DE		2,76	2,79
VR		13,4	13,5
Control 2			
Media		52	52
DE		2,7	3,25
VR		5,2	6,2
Albúmina (g/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		5,6	5,6
DE		0,09	0,11
VR		1,7	2,1
Control 2			
Media		3,7	3,7
DE		0,07	0,11
VR		2,0	2,9
Fosfatasa alcalina (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		39	39
DE		1,81	2,29
SD		4,6	5,8
Control 2			
Media		281	281
DE		4,08	8,75
VR		1,5	3,1
Aspartato aminotransferasa (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		49	49
DE		0,98	0,98
VR		2,07	2,07
Control 2			
Media		147	147
DE		1,83	1,83
VR		1,26	1,26
Calcio (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		8,6	8,6
DE		0,21	0,25
VR		2,4	2,9
Control 2			
Media		11,8	11,8
DE		0,39	0,40
VR		3,3	3,4

Tabla 6: Precisión (continuación)

Sustrato	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Cloruro (mmol/l)			
Control 1	N = 160		
Media		97,8	97,8
DE		1,63	1,74
VR		1,7	1,7
Control 2			
Media		113,6	113,6
DE		1,97	2,22
VR		1,7	2,0
Creatinina (mg/dl)			
Control 1	N=80		
Media		1,1	1,1
DE		0,14	0,14
VR		12,5	13,1
Control 2			
Media		5,2	5,2
DE		0,23	0,27
VR		4,4	5,2
Glucosa (mg/dl)			
Control 1	N=80		
Media		66	66
DE		0,76	1,03
VR		1,1	1,6
Control 2			
Media		278	278
DE		2,47	3,84
VR		0,9	1,4
Potasio (mmol/l)			
Control 1	N = 120		
Media		6,12	6,12
DE		0,32	0,32
VR		5,2	5,7
Control 2			
Media		4,10	4,10
DE		0,24	0,26
VR		5,9	6,3
Sodio (mmol/l)			
Control 1	N = 80		
Media		143,5	143,5
DE		2,28	2,28
VR		1,6	1,6
Control 2			
Media		120,0	120,0
DE		2,13	2,13
VR		1,8	1,8
Bilirrubina total (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		0,8	0,8
DE		0,06	0,07
VR		8,0	9,3
Control 2			
Media		5,2	5,2
DE		0,09	0,15
VR		1,7	2,8

Tabla 6: Precisión (continuación)

Sustrato	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
Dióxido de carbono total (mmol/l)			
Control 1	N = 120		
Media		21,4	21,4
DE		2,29	2,29
VR		10,7	10,7
Control 2			
Media		10,5	10,5
DE		0,90	0,90
VR		8,6	8,6
Proteína total (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		6,8	6,8
DE		0,05	0,08
VR		0,8	1,2
Control 2			
Media		4,7	4,7
DE		0,09	0,09
VR		2,0	2,0
Nitrógeno ureico (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		19	19
DE		0,35	0,40
VR		1,9	2,1
Control 2			
Media		65	65
DE		1,06	1,18
VR		1,6	1,8

Correlación

Las muestras de sangre heparinizada y suero entero se obtuvieron y analizaron en el analizador químico de sangre de Piccolo y por métodos de comparación. Las muestras de sangre entera se analizaron con el analizador químico de sangre de Piccolo en los sitios de campo y las muestras de suero se analizaron con el analizador químico de sangre de Piccolo y por métodos de comparación. En algunos casos se usaron muestras muy y poco enriquecidas para cubrir los rangos dinámicos. Las muestras fueron elegidas para cumplir los valores de distribución en las instrucciones NCCLS EP9-A.[82] En la tabla 7 se muestran las estadísticas de la correlación representativa.

Tabla 7: Correlación del analizador químico de sangre de Piccolo con los métodos de comparación

	Correlación Coeficiente	Pendiente	Intercepta	VER	N	Rangos de la muestra (mmol/l)	Método de Comparación
Alanina Aminotransferasa (U/l)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albúmina (g/dl)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Fosfatasa alcalina (U/l)	0,988	0,970	-5,9	3,97	99	27-368	Paramax
	0,929	1,136	-17,6	4,79	80	26-150	Technicon
Aspartato aminotransferasa (U/l)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1.9	46	13-252	DAX™

Tabla 7: Correlación del analizador químico de sangre de Piccolo con los métodos de comparación (continuación)

	Correlación Coeficiente	Pendiente	Intercepta	VER	N	Rangos de la muestra (mmol/l)	Método de Comparación
Calcio (mg/dl)	0,991* 0,673	0,990 0,742	-0,4 1,8	0,17 0,22	25 81	5,2-11,9 8,1-9,9	Paramax Beckman
Cloruro (mmol/l)	0,978	0,982	-1,1	1,84	120	71-118	Vitros 950
Creatinina (mg/dl)	0,993 0,987	0,926 0,866	0,0 0,1	0,15 0,16	260 107	0,4-14,7 0,4-7,5	Paramax Beckman
Glucosa (mg/dl)	0,987 0,997	1,009 0,943	-2,8 1,2	3,89 4,69	251 91	72-422 56-646	Paramax Beckman
Potasio (mmol/l)	0,969	0,863	0,6	0,14	58	2,0-6,8	Radiómetro KNM™ 2
Sodio (mmol/l)	0,937	0,782	27,7	3,79	113	116-154	Radiómetro KNA™ 2
Bilirrubina total (mg/dl)	0,974 0,98	0,901 1,113	0,0 -0,4	0,07 0,09	250 91	0,2-3,7 0,1-6,4	Paramax Beckman
Dióxido de carbono total (mmol/l)	0,947	0,903	2,4	0,84	60	6-39	Cobas Fara
Proteínas totales (g/dl)	0,849 0,873	0,932 0,935	0,6 0,3	0,19 0,16	251 92	5,7-9,2 6,5-9,2	Paramax Beckman
Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dl)	0,964 0,983	0,923 0,946	0,5 0,0	1,08 0,66	251 92	6-52 6-38	Paramax Beckman

*****Las muestras séricas de pacientes hospitalizados proporcionaron un rango de muestra más amplio y, posiblemente, más útil que las muestras de sangre venosa de pacientes ambulatorios. Las estadísticas de correlación para las pruebas del calcio de Piccolo corresponden a estas muestras de suero.

Resultados de un estudio con usuarios sin formación

Se llevó a cabo un estudio con "usuarios sin formación", en el que los participantes, únicamente con las instrucciones del análisis que se les proporcionaban, debían analizar tres discos con muestras aleatorizadas a ciegas. Las muestras se prepararon a base de suero con tres niveles de cada uno de los catorce analitos: ALT, albúmina, ALP, AST, calcio, cloruro, creatinina, glucosa, potasio, sodio, bilirrubina total, dióxido de carbono total, proteína total y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN). Los participantes no tenían ninguna formación en la realización del análisis. Se reclutaron en total aproximadamente 60 participantes de 3 centros, que constituían una población suficientemente diversa (estudios, edad, sexo, etc.) a efectos demográficos.

En las tablas siguientes se muestra un resumen del rendimiento de cada analito.

Alanina aminotransferasa (ALT)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	45,4 U/l	98,9 U/l	184,3 U/l
% VR	3,7 %	1,7 %	1,5 %
Intervalo observado	42 – 53	96 – 103	175 – 191
Porcentaje de resultados en el interval ± 15,0 %*	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

* Este porcentaje está basado en el supuesto de que es imposible distinguir correctamente entre valores normales y anormales cuando el error es mayor de una cuarta parte de intervalo normal. Se utilizó el intervalo (10 U/l - 47 U/l).

Albúmina (ALB)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	3,0 g/dl	3,5 g/dl	4,2 g/dl
% VR	2,7 %	2,5 %	1,8 %
Intervalo observado	2,9 – 3,2	3,3 – 3,7	4,0 – 4,4
Porcentaje de resultados en el interval ± 12,5 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Fosfatasa alcalina (ALP)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	94,5 U/l	171,5 U/l	337,5 U/l
% VR	5,2 %	3,2 %	2,4 %
Intervalo observado	85 – 106	160-184	287 – 388
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Aspartato aminotransferasa (AST)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	56,0	120,4	276,3
% VR	2,4 %	1,1 %	1,0 %
Intervalo observado	54 – 60	117 – 124	266 – 285
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Calcio (CA)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	8,0	10,5	13,1
% VR	1,7 %	1,5 %	1,4 %
Intervalo observado	7,7 – 8,4	10,1 – 11,0	12,6 – 13,4
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 6,3 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Cloruro (CL^-)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	94,6	106,0	115,5
% VR	1,8	1,4	1,5
Intervalo observado	90 – 100	102 – 108	110 – 119
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 2,4 %	91,9 % 57/62 95 % IC: 82,2 % a 97,3 %	96,8 % 60/62 95 % IC: 88,8 % a 99,6 %	95,2 % 59/62 95 % IC: 86,5 % a 99,0 %

Creatinina (CRE)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	0,89	2,07	6,89
% VR	11,0	5,0	1,6
Intervalo observado	0,7 – 1,2	1,8 – 2,3	6,5 – 7,2
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	93,6 58/62 95 % IC: 84,3 % a 98,2 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Glucosa (GLU)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	95,2	130,3	365,8
% VR	1,1 %	1,0 %	0,8 %
Intervalo observado	93 – 98	125 – 133	351 – 373
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 10,4 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Potasio (K^+)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	3,4	5,7	7,2
% VR	3,3	2,5	2,0
Intervalo observado	3,2 – 3,7	5,2 – 5,9	6,7 – 7,5
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 8,6 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Sodio (NA^+)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	122,1	140,8	157,5
% VR	1,0	0,8	1,0
Intervalo observado	118 – 127	138 – 143	154 – 162
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 3,1 %	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Bilirrubina total (TBIL)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	0,86 mg/dl	2,5 mg/dl	5,7 mg/dl
% VR	6,1 %	2,6 %	1,8 %
Intervalo observado	0,8 – 1,0	2,3 – 2,6	5,4 – 5,9
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Dióxido de carbono total (tCO_2)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	20,3	27,6	34,4
% VR	5,1	4,6	3,7
Intervalo observado	18 –23	23 – 30	32 – 38
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 14,7 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Proteína total (TP)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	4,8 g/dl	5,7 g/dl	7,1 g/dl
% VR	2,0 %	1,5 %	1,5 %
Intervalo observado	4,6 – 5,3	5,3 – 5,9	6,7 – 7,5
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 5,9 %	98,4 % 61/62 95 % IC: 91,3 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

Nitrógeno ureico sanguíneo (BUN)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	15,1	41,0	72,2
% VR	2,3	2,5	1,8
Intervalo observado	14 – 16	37 – 43	68 – 75
Porcentaje de resultados en el intervalo ± 15,0 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %	100 % 62/62 95 % IC: 94,2 % a 100 %

13. Bibliografía

1. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957 28: 56-63.
3. Murray, RL. Alanine aminotransferase. Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer, HU, M Horder. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980;18:521-534.

13. Bibliografía (continuación)

6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem 1921;49:93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. J Biol Chem 1921;49:109-113.
8. Wolfson WQ, y otros. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol 1948;18:723-30.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem 1961;7:626-36.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem 1966;12:414-17.
11. Gendler, SM. Albumin. Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, Attwood EC. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974 53: 101-108.
13. Louderback A, MealeyEH, Taylor NA. A new dye-binding technic using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 1968 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem 1978;24:80-86.
15. King, EJ and Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can Med Assoc J 1934 31: 376-381.
16. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J Clin Pathol 1954 7: 322-326.
17. Ohmori, Y. Uber die Phosphomonoesterase. Enzymologia 1937; 4: 217-231.
18. Fujita, H. Uber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. J Biochem, Japan 1939 30: 69-87.
19. Petitclerc C, Delisle M, Martel M. Mechanism of action of Mg2+ and Zn2+ on rat placental alkaline phosphatase. I. Studies on the soluble Zn2+ and Mg2+ alkaline phosphatase. Can J Biochem 1975 53: 1089-1100.
20. Tietz NW, y otros. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. Clin Chem 1983;29:751-761
21. Bowers GN Jr, y otros. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part I. General considerations concerning the determination of the catalytic concentration of an enzyme in the blood serum or plasma of man. Clin Chim Acta 1979 98: 163F-174F.
22. Karmen, A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 1955 34: 131-133.
23. Bergmeyer HU, y otros. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977 23: 887-899.
24. Bergmeyer HU, y otros. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978;24:720-721
25. Kramer B y otros. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. J Biol Chem 1921;47:475-481.
26. Clark EP y otros. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. J Biol Chem 1925;63:461-464.
27. Katzman E y otros. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. J. Biol Chem 1937;118:539-544.
28. Cali y otros. A reference method for the determination of total calcium in serum. *En:* Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 8. Cooper GR, comp. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1977: 3-8.
29. Kessler G y otros. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964;10:686-703.
30. Michaylova V y otros. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53: 194-198.
31. Scarpa A y otros. Metallochromic indicators of ionized calcium Ann NY Acad Sci 1978:307:86-112.
32. Ono T y otros. A new enzymatic assay of chloride in serum. Clin Chem 1988;34:552-553
33. Knoll VE y otros. Spezifische Kreatininbetimmung Im Serum. Z Klin Chemi Clin Biochem. 1970;8:582-587.
34. Haeckel R y otros. Simplified determinations of the “true” creatinine concentration in serum and urine. J Cklin Chem Clin Biochem. 1980;18:385-394.
35. Moss GA y otros. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. 1975;21:1422-1426.
36. Jaynes PK y otros. An Enzymatic, Rate-Rate Assay For Serum Creatinine With a Centrifugal Analyzer. 1982; 28:114-117.
37. Fossati P y otros. Enzymatic Creatinine Assay: A New Colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement. 1983;29:1494-1496.

13. Bibliografía (continuación)

38. Whelton A y otros. Nitrogen metabolites and renal function. En: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2ª ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994;1513-1575.
39. Folin O y otros. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919;38:81-110.
40. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937;117:771-776.
41. Nelson N y otros. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol. 1944;153:375-380.
42. Kaplan LA. Glucose. Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2ª ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
43. Berry MN y otros. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem 1989;35:817-20.
44. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. Clin Chem 1994;40:846-847
45. Hubl W y otros. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. Clin Chem 1994;40:1528-1531
46. Helgerson RC y otros. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium selective-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc 1989;111:6339-50.
47. Kumar A y otros. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem 1988;34:1709-1712
48. Berry MN y otros. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem 1988;34:2295-2298
49. Malloy, HT y Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-490.
50. Meites, S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. En: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol. 9. Faulkner WR, Meites S, comps. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-124.
51. Murao S, Tanaka N. A new enzyme "bilirubin oxidase" produced by Myrothecium verrucaria MT-1. Agric Biol Chem 1981; 45: 2383-2384.
52. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. Clin Chem 1984; 30: 971. (Abstract)
53. Perry B, y otros.. Measurement of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem 1986; 32: 329-332.
54. Skeggs LT Jr. An automatic method for the determination of carbon dioxide in blood plasma. Am J. Clin Pathol 1960;33:181-185.
55. Korzun WJ, Miller WG. Carbon Dioxide. Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The CV Mosby Company. 1989: 869-872.
56. Koller A, Kaplan LA. Total serum protein. Clinical chemistry theory, analysis and correlation, 2ª ed. Kaplan LA, Pesce AP, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1057-1060.
57. Reigler, E. Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Eiweisses. Z Anal Chem 1914; 53: 242-245.
58. Weichselbaum, TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Path 1946; 16: 40-49.
59. Doumas BT y otros. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. Clin Chem 1981; 27: 1642-1650.
60. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. *En*: Selected Methods of Clinical Chemistry, Vol 9. Faulkner WR, Meites S, comps. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 365-373.
61. Van Slyke y otros. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem, 1914; 19: 11-228.
62. Fawcett JK y otros. A rapid and precise method for the determination of urea. J Clin Pathol, 1960;13:156-159.
63. Chaney y otros. Urea and ammonia determinations. Clin Chem, 1962;8:130-132.
64. Talke H y otros. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut and Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch, 1965;43:174-175.
65. Hallett y otros. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta, 1971;35:33-37.
66. Patton y otros. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem, 1977;49:464-469.
67. Sampson EJ y otros. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem, 1980;26:816-826.
68. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Physician's office laboratory guidelines, tentative guideline, 2ª ed. NCCLS Document POL1-T2. Wayne, PA NCCLS, 1992.
69. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1058-1059.

13. Bibliografía (continuación)

70. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA NCCLS, 1999.
71. Overfield CV, y otros. Glycosis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972 39: 35-40.
72. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem.1988; 34-2111-4.
73. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. En: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, Kaplan LA, Pesce AJ, comps. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
74. Henry RJ y otros. Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2ª ed. New York: Harper and Row, 1974: 417-421; 1058-1059.
75. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed. Burtis CA, Ashwood ER, comps. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999: 1065-1066.
76. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA NCCLS, 2002.
77. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3ª ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
78. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2ª ed NCCLS Document C28-A2. Wayne, PA NCCLS, 2000.
79. Painter PC, Cope JY, Smith JI. Reference Information for the clinical laboratory. En: Burtis CA, Ashwood ER, comps. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999 págs. 676-684.
80. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
81. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-A. Wayne, PA NCCLS, 2002.
82. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA NCCLS, 2002.